

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**FLAVIANE DE FREITAS CALASANS MIRANDA**

**MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A  $\beta$ -LACTÂMICOS EM  
ENTEROBACTERIACEAE**

**Belo Horizonte**

**2018**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**FLAVIANE DE FREITAS CALASANS MIRANDA**

**MECANISMOS DE RESISTÊNCIA A  $\beta$ -LACTÂMICOS EM  
ENTEROBACTERIACEAE**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Pós-graduação em Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Especialista

Aluna: Flaviane de Freitas Calasans Miranda

Orientadora: Profa. Dra. Mila Fernandes Moreira  
Madeira

**Belo Horizonte**

**2018**

Dedico este trabalho com muita gratidão aos que sempre estiveram comigo, por todas as palavras de incentivo que ouvi durante esta trajetória.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me sustenta, ampara e permitiu que tantas bênçãos acontecessem ao longo da minha vida.

À Universidade Federal de Minas Gerais e seu corpo docente, que oportunizaram a janela que hoje vislumbro, eivado pela confiança no mérito e ética aqui presentes.

À Profa. Dra. Mila Fernandes Moreira Madeira, pela orientação, paciência e suporte dado à elaboração deste trabalho.

As professoras, Agnes Casali e Lucienne França, que ministraram as aulas de microbiologia durante minha graduação com tanto amor, que chegou a ser contagiante.

Aos meus supervisores de estágio, Ailton Antônio e Flávia Garcia, que me incentivaram a trilhar os caminhos da microbiologia.

Agradeço a todos os professores que passaram em minha vida, por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e efetividade da educação no processo da minha formação, por tanto que se dedicaram a mim.

Ao meu esposo, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

À minha família e amigos, que nos momentos dedicados ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

Aos meus amigos da especialização, que fizeram parte da minha formação e que irão continuar presentes em minha vida.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado!

*“A mente que se abre a uma nova ideia,  
jamais voltará ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

## RESUMO

O uso de antimicrobianos é essencial para tratar doenças infecciosas, entretanto, o uso indevido, assim como a administração empírica, ocorre de forma significativa, geralmente de forma abusiva e desnecessária. O resultado é o aumento da pressão seletiva e o desenvolvimento de mecanismos de resistência. Micro-organismos responsáveis por diversas doenças infecciosas têm desenvolvido mecanismos de resistência a diferentes antimicrobianos, como os  $\beta$ -lactâmicos, por exemplo, o que representa um sério desafio para a terapêutica, com consequente aumento dos índices de mortalidade. Assim, o aumento da resistência antimicrobiana representa uma ameaça crescente à saúde pública. Dentre o grupo de micro-organismos multirresistentes destacam-se as bactérias, que utilizam diferentes mecanismos bioquímicos e/ou genéticos pelos quais podem impedir a ação de um antibacteriano  $\beta$ -lactâmico. Um dos principais mecanismos é a produção de  $\beta$ -lactamases, as quais se caracterizam por serem enzimas capazes de promover a degradação do anel  $\beta$ -lactâmico, fazendo com que o antimicrobiano seja inativado. Entre as  $\beta$ -lactamases, o grupo que gera uma maior preocupação atualmente é o das  $\beta$ -lactamases de amplo espectro (ESBL) e o grupo das carbapenemases, mais versáteis e que conferem resistência a todos os  $\beta$ -lactâmicos. As enterobactérias produtoras ESBL, assim como as produtoras de carbapenemases, por exemplo, possuem um dos principais mecanismos de resistência emergente entre os representantes da família Enterobacteriaceae. Medidas para evitar uma crise global na saúde tornam-se cada vez mais necessárias e urgentes, uma vez que há uma escassez de novos antibacterianos. Além disso, os antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos que já estão em uso vêm apresentando ineficiência no combate a bactérias multirresistentes. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica, abordando questões relativas aos mecanismos de resistência de bactérias multirresistentes da família Enterobacteriaceae a agentes  $\beta$ -lactâmicos.

**Palavras-chave:** Enterobacteriaceae; Mecanismos de resistência;  $\beta$ -lactâmicos; ESBL; Carbapenemases.

## ABSTRACT

The use of antimicrobials is essential for treating infectious diseases; however, misuse, as well as empirical administration, occurs significantly, usually in an abusive and unnecessary way. The result is an increased selective pressure on bacteria to develop resistance mechanisms. Microorganisms responsible for various infectious diseases have developed mechanisms of resistance to many antimicrobials, such as  $\beta$ -lactams, for example, which represents a serious challenge for therapeutics, and a consequent increase in mortality rates. Thus, increased antimicrobial resistance poses a growing threat to public health. Bacteria are among the group of multiresistant microorganisms which use different biochemical and / or genetic mechanisms, by which they can prevent the action of an  $\beta$ -lactam. One of the main mechanism is the production of  $\beta$ -lactamases, which are enzymes able of promoting degradation of the  $\beta$ -lactam ring, causing the inactivity of the antimicrobial. Among the  $\beta$ -lactamases, the group of the broad-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) generates a greater concern, and the carbapenemases group, which are more versatile enzymes that confer resistance to all  $\beta$ -lactams. Enterobacteriaceae-producing broad-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL), as well as the producers of carbapenemases, for example, have one of the main emerging resistance mechanisms among representatives of the family. Actions to prevent a global health crisis become urgent once there is a shortage of new antibacterials. In addition,  $\beta$ -lactams that are already in clinical use have presented inefficiency against multiresistant bacteria. Thus, this study aimed to perform a bibliographic review, addressing issues related to the resistance mechanisms of multiresistant bacteria of the family Enterobacteriaceae to  $\beta$ -lactams agents.

**Uniterms:** Enterobacteriaceae; Mechanisms of resistance;  $\beta$ -lactams; ESBL; Carbapenemases.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Propagação de genes de resistência MCR1, NDM1, KPC e QNR, transmitidos por plasmídeos, em enterobactérias. ....	18
<b>Figura 2:</b> Representação ilustrativa da transferência horizontal de genes. ....	23
<b>Figura 3:</b> Representação dos diversos tipos de mecanismos de resistência bacteriana: Alteração de permeabilidade, bomba de efluxo, mecanismo enzimático e alteração do sítio alvo .....	25
<b>Figura 4:</b> Antibacterianos afetados pelos diversos mecanismos de resistência bacteriana. ....	25
<b>Figura 5:</b> Mecanismo de inativação dos $\beta$ -lactâmicos por $\beta$ -lactamases com serina no seu centro ativo. ....	29
<b>Figura 6:</b> Localização da $\beta$ -lactamase em bactéria Gram-positiva e Gram-negativa.....	30
<b>Figura 7:</b> Local de ataque das $\beta$ -lactamases nos antibacterianos $\beta$ -lactâmicos: Penicilinas, Cefalosporinas, Monobactams e Carbapenems. ....	31

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Lista de “agentes patogênicos prioritários” divulgados pela OMS, adaptada.....	21
<b>Tabela 2:</b> Classificação dos antibacterianos $\beta$ -lactâmicos. ....	32
<b>Tabela 3:</b> Classificação das $\beta$ -lactamases segundo Bush e Jacoby (2010), resumida e adaptada. ....	34

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC - *ATB-Binding Cassete*

AMC - Amoxicilina-ácido clavulânico

AMP - Ampicilina

AMS - Ampicilina-sulbactam

AMX - Amoxicilina

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATM - Aztreonam

BAR - Carbenicilina

BPR - Ceftobiprole

CAZ - Ceftazidima

CEC - Cefaclor

CEP - Cefalotina

CFX - Cefuroxima

CFZ - Cefazolina

CLO - Cloxacilina

CMY: Ativa sobre cefamicinas

CPA - Ceftaroline-avibactam

CPD - Cefpodoxima

CPM - Cefepima

CPT - Ceftaroline

CRO - Ceftriaxona

CTT - Cefotetan

CTX - Cefotaxima

CZA - Ceftazidime-avibactam

DOR - Doripenem

ERT - Ertapenem

ESBL -  $\beta$ -lactamases de amplo espectro

FAR - Faropenem

FOX - Cefoxitina

IMP - Imipenem

IRAS - Infecções relacionadas à assistência à saúde

ITU - Infecções do trato urinário  
KPC - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase  
LEX - Cefalexina  
LOR - Loracarbef  
LPS - Lipopolissacarídeos  
MATE - *Multidrug and Toxic Compound Extrusion*  
MBL - Metallo- $\beta$ -lactamase  
MCR1 - Resistência de colistina mobilizada  
MecA - Gene codificador da proteína PBP2a ou PBP2'  
MER - Meropenem  
MET - Meticilina  
MEZ - Mezlocilina  
MFS - *Major Facilitator Superfamily*  
MOX - Moxalactam  
NDM1 - *New-Delhi metallo- $\beta$ -lactamase*  
OMS - Organização Mundial da Saúde  
OXA - Oxacilina  
PBP - Proteína ligadora de penicilina  
PIP - Piperacilina  
PAHO - Organização Pan-Americana da Saúde  
PTZ - Piperacilina-tazobactam  
QNR- Proteínas de resistência a quinolona  
RAM - Resistência antimicrobiana  
RND - *Resistance Nodulation Division*  
SMR - *Small Multidrug Resistance*  
SHV - Sulfidril variável  
TIC - Ticarcilina  
TIM - Ticarcilina-ácido clavulânico  
TEM - Temoniera  
UTI - Unidade de terapia intensiva  
VIM - Metallo- $\beta$ -lactamase codificada por integração de Verona  
Zn – Zinco

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	OBJETIVO .....	15
2.1	Objetivo geral .....	15
3	METODOLOGIA .....	16
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
4.1	Impactos da resistência bacteriana a antimicrobianos .....	17
4.2	Enterobacteriaceae .....	19
4.3	Mecanismos de resistência bacteriana .....	21
4.3.1	Alteração da permeabilidade da membrana celular externa .....	26
4.3.2	Modificação do sítio alvo .....	26
4.3.3	Bombas de efluxo .....	27
4.3.4	Inativação enzimática .....	27
4.4	Mecanismos de resistência aos $\beta$ -lactâmicos.....	28
4.4.1	$\beta$ -lactamases .....	31
4.4.2	$\beta$ -lactamases de amplo espectro – ESBL.....	35
4.4.3	Carbapenemases .....	36
4.5	Medidas de controle.....	38
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	41
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a resistência antimicrobiana (RAM) é um grave problema de saúde que vem crescendo ao longo de décadas. As bactérias responsáveis por diversas doenças infecciosas desenvolveram resistência aos antibacterianos, com conseqüente evolução da RAM, o que representa uma ameaça crescente à saúde pública (OMS, 2012).

Os antimicrobianos revolucionaram a história da Medicina, contribuindo para a diminuição dos índices de mortalidade e morbidade relacionados a diferentes doenças infecciosas (PAULA, et al., 2016). Entretanto, o uso inadequado de antimicrobianos utilizados na saúde humana e animal, além das medidas inadequadas para controlar a disseminação de infecções, estimularam o aumento da RAM. Bactérias que manifestam mecanismos de resistência podem disseminar-se em hospitais e na comunidade, impactando o atendimento à saúde (OMS, 2012). As infecções hospitalares ou infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) tornaram-se um dos maiores desafios à saúde pública em todo o mundo, pelas graves conseqüências sociais e econômicas, além da ameaça constante de disseminação de bactérias multirresistentes (CUNHA, 2014).

O desenvolvimento da RAM pode ser considerado como uma manifestação natural, conduzida pelo princípio evolutivo da adaptação genética dos micro-organismos, à mudanças no meio em que vivem. Existem inúmeras oportunidades para uma adaptação evolutiva. Entretanto, o uso frequente de antimicrobianos, foi um dos fatores responsáveis pelo aparecimento da RAM (OLIVEIRA et al., 2014).

Em 1945, o pesquisador Alexander Fleming já havia alertado sobre o perigo do desenvolvimento de resistência bacteriana diante do uso abusivo da penicilina, descoberta por ele em 1928 (VENTOLA, 2015). Mas foi a partir de 1950 que realmente começaram a surgir os primeiros relatos de resistência à penicilina (CROSFTS; GASPARRINI; DANTAS, 2017).

No desenvolvimento da RAM, bactérias utilizam diferentes mecanismos bioquímicos e/ou genéticos, pelos quais podem impedir a ação de um antibacteriano. Dentre esses mecanismos há a produção de enzimas, a restrição do acesso ao alvo da droga, a diminuição do número de porinas, a modificação do sítio alvo ou mutações, que podem ocorrer pela aquisição de genes de resistência, como, por exemplo, os genes transmitidos por plasmídeos (ANVISA, 2007).

Dentre as bactérias Gram-negativas, a principal forma de resistência aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos é a produção de enzimas  $\beta$ -lactamases. Estas enzimas são capazes de promover a degradação do anel  $\beta$ -lactâmico, fazendo com que o antimicrobiano seja inativado, impedindo a atividade deste contra as enzimas responsáveis pela síntese da parede celular bacteriana. Entre as  $\beta$ -lactamases, o grupo que gera uma maior preocupação atualmente é o das  $\beta$ -lactamases de amplo espectro (ESBL) e o grupo das carbapenemases (SEIBERT et al., 2014). As carbapenemases são enzimas mais versáteis que conferem resistência a todos os  $\beta$ -lactâmicos, ou seja, possui um espectro ainda mais amplo que as ESBL (TZOUVELEKIS et al., 2012; DJAHMI et al., 2014; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ; GONZÁLEZ-LÓPEZ, 2014).

Medidas para evitar uma crise global na saúde tornam-se cada vez mais necessárias e urgentes, uma vez que há uma escassez de novos antibacterianos e, os que já estão em uso, vêm apresentando ineficiência no combate a bactérias multirresistentes. De acordo com Costa e Silva Junior (2017), um antibacteriano ideal deve ter um alvo seletivo, uma rápida ação bactericida, alcançar elevados níveis terapêuticos e apresentar baixo nível de toxicidade. Além disso, deve apresentar poucos efeitos colaterais, diferentes vias possíveis de administração, uma boa distribuição no local de infecção, não agredir as defesas imunológicas do hospedeiro e possuir boa relação custo/eficácia. Todas essas características, no entanto, são difíceis de serem obtidas em um único medicamento.

De acordo com Queiroz e colaboradores (2012), os principais desafios relacionados aos antimicrobianos disponíveis atualmente estão associados à sensibilidade reduzida, à questão tolerância/toxicidade e ao fato de a maioria ter uma lenta ação bacteriostática ou bactericida. O surgimento de novas opções terapêuticas é inferior à velocidade de seleção e disseminação de resistência bacteriana. O tempo entre a descoberta, pesquisa e o desenvolvimento de um novo antibacteriano, até a comercialização do mesmo, é de aproximadamente dez anos (QUEIROZ et al., 2012; ALVES; BEHAR, 2013; FIGUEIRAL; FARIA, 2015).

Apesar disso, há relatos que novos antimicrobianos possam estar disponíveis nos próximos anos, como novas opções terapêuticas para o combate de micro-organismos multirresistentes, dentre estas novas opções destacam-se: ceftaroline-fosamil e ceftobiprole, pertencentes à classe das cefalosporinas de amplo espectro, sendo consideradas como cefalosporinas de 5<sup>o</sup> geração e apresentando um baixo potencial para o desenvolvimento da RAM. E na classe dos carbapenêmicos uma nova opção é o doripenem. Este possui um amplo

espectro contra bactérias Gram-negativas principalmente contra *K. pneumoniae* (VERDI et al, 2016).

Devido à falta de opções terapêuticas, ao aumento da incidência da multirresistência bacteriana e na tentativa de orientar e promover o desenvolvimento de novos fármacos para enfrentar a RAM, a OMS publicou, em 2017, sua primeira lista de “agentes patogênicos prioritários” resistentes a antimicrobianos, com destaque às bactérias Gram-negativas. Essa lista contém 12 espécies bacterianas com potencial patogênico para a saúde humana, sendo dividida em três categorias, de acordo com a urgência e a necessidade de novos antibacterianos: prioridades crítica, alta ou média.

O grupo mais crítico inclui bactérias multirresistentes relacionadas às IRAS, entre elas, estão: *Acinetobacter baumannii*, resistente a carbapenêmicos; *Pseudomonas aeruginosa*, resistente à carbapenêmicos e Enterobacteriaceae resistentes à carbapenêmicos e produtoras de ESBL (PAHO, 2017).

Na categoria de prioridade alta, há bactérias cada vez mais resistentes aos fármacos e que são agentes etiológicos de doenças comuns, como: *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina; *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, com sensibilidade intermediária e resistência à vancomicina; *Helicobacter pylori* resistente à claritromicina; *Campylobacter spp.* resistente às fluoroquinolonas; *Salmonella* resistente às fluoroquinolonas; *Neisseria gonorrhoeae* resistente à cefalosporina e resistente às fluoroquinolonas (PAHO, 2017).

Na categoria de prioridade média, há bactérias que apresentam resistência aos fármacos e também são agentes etiológicos de doenças comuns: *Streptococcus pneumoniae* sem sensibilidade à penicilina; *Haemophilus influenzae* resistente à ampicilina; *Shigella spp.* resistente às fluoroquinolonas (PAHO, 2017).

Nesse contexto, o presente trabalho abordará aspectos de resistência de bactérias da família Enterobacteriaceae citadas na prioridade crítica da lista divulgada pela OMS em 2017.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Realizar uma revisão bibliográfica sobre os mecanismos de resistência de bactérias multirresistentes da família Enterobacteriaceae a agentes  $\beta$ -lactâmicos.

### 3 METODOLOGIA

Este trabalho foi baseado em uma pesquisa qualitativa, realizada por uma revisão bibliográfica, composta por diferentes publicações nacionais e internacionais em revistas científicas, além de resoluções que abordam de forma adequada o tema proposto. Para obtenção de todo esse material, foi realizado um levantamento bibliográfico nas bases de dados SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*), PubMed, MEDLINE, dentre outros, como teses e dissertações na área de Microbiologia.

O levantamento e a revisão do conhecimento produzido sobre o tema iniciou-se pela definição dos descritores para direcionar as buscas a serem realizadas incluindo: Enterobacteriaceae, Mecanismos de resistência,  $\beta$ -lactâmicos, ESBL e Carbapenemases.

O período de busca das informações contidas neste trabalho iniciou-se em maio de 2017 e finalizou-se em janeiro de 2018. Os critérios de inclusão utilizados foram os artigos publicados entre os anos de 1988 e 2017, cujos textos estavam disponíveis *online*, na íntegra; e nos idiomas Português e Inglês.

Além disso, foi feita a leitura crítica para selecionar as informações mais relevantes acerca do tema. Desse modo, a síntese de todo o material utilizado está contido nesse trabalho.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

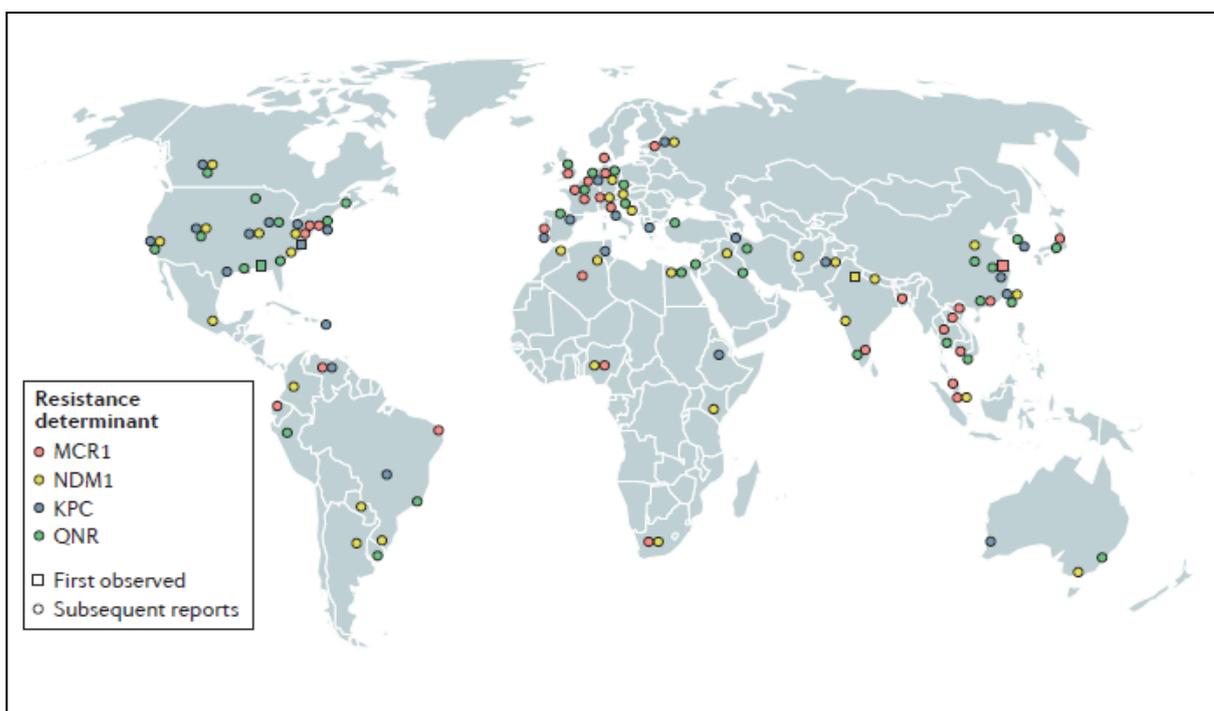
### 4.1 Impactos da resistência bacteriana a antimicrobianos

A resistência antimicrobiana (RAM) é um processo natural, resultante da capacidade do micro-organismo em desenvolver mecanismos que impeçam a ação de antimicrobianos. O uso incorreto de antimicrobianos, com conseqüente aceleração deste processo, compromete a eficácia dos tratamentos disponíveis, tornando o combate às doenças infecciosas cada vez mais difícil e potencialmente mais agravante. Diante disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) considera a RAM um problema crítico de saúde pública mundial (OMS, 2012; OLIVEIRA et al., 2014; CUNHA, 2014).

A RAM tornou-se um dos principais problemas de saúde pública, ocorrendo em ambientes hospitalares e comunitários, identificada em diferentes espécies de micro-organismos. Dentre as bactérias, a RAM tem sido identificada principalmente em espécies da família Enterobacteriaceae, destacando-se a sua rápida disseminação e o surgimento constante de novas variantes resistentes (OLIVEIRA, 2013). Infelizmente, no Brasil, não existem programas de vigilância, de abrangência nacional, referentes à RAM e os respectivos mecanismos de ação, o que torna difícil o reconhecimento da verdadeira frequência de bactérias resistentes e a comparação entre os dados de diferentes regiões (OLIVEIRA, 2013). Assim, fatores epidemiológicos relevantes para o controle das doenças infecciosas, destinados ao combate de micro-organismos resistentes, são baseados em documentos internacionais como os da *Food and Drug Administration*, *Center for Disease Control*, *World Health Organization* e do *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. Todavia, um fator considerado importante, em cada documento disponibilizado, é a oferta de recursos, assim como a ausência de determinadas condições patológicas presentes na realidade de cada país, o que gera limitações para as ações de controle e prevenção da RAM em diferentes comunidades, em função da desigualdade socioeconômica dos países onde a literatura de referência é publicada (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Nas últimas décadas, várias novas ameaças de RAM surgiram e foram disseminadas por todo o mundo. O surgimento e propagação de genes de resistência, principalmente os transmitidos por plasmídeos, comprometeram muitas terapias antimicrobianas de última geração como, por exemplo, as cefalosporinas e os carbapenêmicos  $\beta$ -lactâmicos. O uso de cefalosporinas ficou comprometido pela resistência resultante da

propagação filogenética das  $\beta$ -lactamases de amplo espectro (ESBLs) (CROSFTS; GASPARRINI; DANTAS, 2017). O que era um problema local tornou-se um problema de dispersão genética global entre diferentes espécies de bactérias Gram-negativas incluindo enterobactérias, devido à dispersão de clones resistentes (Figura 1) (JUNIOR, 2014).



**Figura 1:** Propagação de genes de resistência MCR1, NDM1, KPC e QNR, transmitidos por plasmídeos, em enterobactérias. Ano de detecção de cada gene: MCR1 (Resistência de Colistina Mobilizada - 2015); NDM1 (*New-Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase* - 2006); KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemases - 2001); QNR (Proteínas de Resistência a Quinolona - 1998). (Fonte: CROSFTS; GASPARRINI; DANTAS, 2017).

No Brasil, a produção de ESBL por Enterobacteriaceae tornou-se preocupante, uma vez que estas possuem diversas variantes já descritas em patógenos de origem hospitalar, em especial nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI), mas também em micro-organismos de origem comunitária, como: *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Salmonella enterica*, *Citrobacter* spp., *Proteus mirabilis* e *Serratia marcescens*. No entanto, a maior preocupação clínica tem sido a alta prevalência de ESBL em *Klebsiella* spp. e *E. coli*, associada às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (SILVA; LINCOPAN, 2012).

Em países onde o sistema de saúde é precário, o impacto da RAM na economia é subestimado. Calcula-se que, nesses locais, dois terços da mortalidade infantil estejam relacionados a doenças infecciosas como meningite, diarreia, febre tifoide e sepse neonatal, muitas vezes desencadeadas pela resistência a antibacterianos (revisto por COAN, 2014). No

Brasil, no entanto, um estudo feito por França et al., (2015), mostra que houve uma redução nas taxas de mortalidade infantil entre 1990 e 2015. A taxa de morte por sepse neonatal a cada 1000 nascimentos, por exemplo, era 2,58 em 1990 e foi para 1,69 em 2015.

Uma das consequências da RAM é a diminuição da eficácia de antimicrobianos disponíveis para o tratamento de determinadas doenças infecciosas, principalmente nos casos de reinfecção (FRANCO, 2017).

## 4.2 Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae é uma família de bactérias Gram-negativa, que não formam esporos, são oxidase negativa e há presença de motilidade em algumas espécies. Crescem em diferentes meios de cultura, desde meios básicos a meios ricos e seletivos. São anaeróbios facultativos, fermentam glicose com ou sem produção de gás, são catalase positivo e reduzem nitrato a nitrito. Podem ser encontradas na natureza ou no trato gastrointestinal de seres humanos e animais, como membros da microbiota residente, ou como agentes causadores de doenças infecciosas, sendo o principal grupo de bactérias isoladas de amostras clínicas, como por exemplo: em amostras de urina de ITU, fezes de enterocolites, sangue de septicemias e licor de meningites (ANVISA, 2004; JUNIOR, 2014).

Atualmente, a família Enterobacteriaceae é composta por 44 gêneros, 176 espécies e quatro grupos entéricos ainda não nomeados (CUNHA, 2014). As diferentes espécies estão envolvidas em infecções do trato urinário (ITU), pneumonias nosocomiais, sepse e até infecções comunitárias. Pode-se relacionar os casos mais frequentes de ITU com bactérias do gênero *Escherichia* e os casos de pneumonia a bactérias do gênero *Enterobacter* e *Klebsiella*, principalmente *K. pneumoniae* (CUNHA, 2014). Trata-se da principal família bacteriana associada à produção de ESBL, sendo que as espécies *E. coli* e *K. pneumoniae* são as de maior importância (BROLUND, 2014).

As doenças infecciosas ocasionadas por enterobactérias acometem principalmente pessoas imunocomprometidas e debilitadas, estando altamente relacionadas ao ambiente hospitalar, após a realização de procedimentos invasivos (JUNIOR, 2014). As enterobactérias apresentam mecanismos genéticos e bioquímicos que lhes conferem resistência a antimicrobianos. Dentre os principais mecanismos podem ser mencionados a produção de ESBL e de carbapenemases, (PAULA et al., 2016).

As ESBLs são enzimas codificadas por genes plasmidiais. Estas enzimas hidrolisam o anel  $\beta$ -lactâmico presente na estrutura química dos antibacterianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos, inclusive os de amplo espectro, como as cefalosporinas de primeira, segunda e terceira geração, os monobactâmicos e as penicilinas. (PAULA et al., 2016). Já as carbapenemases são  $\beta$ -lactamases com maior espectro e um maior potencial de degradação de quase todos os antibacterianos beta-lactâmicos (ANDRADE; DARINI, 2017).

A emergência e a disseminação da RAM à classe dos  $\beta$ -lactâmicos, entre os micro-organismos da família Enterobacteriaceae, assim como de outros bacilos Gram-negativos, tornou-se um problema crescente no ambiente hospitalar, tendo como consequência um aumento significativo nas taxas de resistência às cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, monobactâmicos (incluindo o aztreonam) e, mais recentemente, aos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem) (GONÇALVES, 2016; FRANCO, 2017). Atualmente, as IRAS causadas por enterobactérias multirresistentes são um motivo de grande preocupação em todo o mundo, especialmente em pacientes internados em hospitais de países em desenvolvimento, onde as taxas de mortalidade e os custos são extremamente elevados e significativos (GONÇALVES, 2016).

Em 2017, a OMS publicou sua primeira lista de “agentes patogênicos prioritários” resistentes a antimicrobianos, com destaque às bactérias Gram-negativas. A lista foi elaborada devido à falta de opções terapêuticas, ao aumento da incidência da multirresistência bacteriana e na tentativa de orientar e promover o desenvolvimento de novos fármacos para enfrentar a RAM. Essa lista contém 12 espécies bacterianas com potencial patogênico para a saúde humana, sendo dividida em três categorias, de acordo com a urgência e a necessidade de novos antibacterianos: prioridades crítica, alta ou média (Tabela 1). Dentre os agentes patogênicos citados, espécies do gênero Enterobacteriaceae, resistente a carbapenema, produtoras de ESBL também foram incluídas (PAHO, 2017).

Tabela 1: Lista de “agentes patogênicos prioritários” divulgados pela OMS, adaptada.

Prioridade 1 - CRÍTICA	Prioridade 2 - ALTA	Prioridade 3 - MÉDIA
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Acinetobacter baumannii</i>, resistente a carbapenema;</li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, resistente a carbapenema;</li> <li>❖ <b><u>Enterobacteriaceae, resistente a carbapenema, produtoras de ESBL.</u></b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Enterococcus faecium</i>, resistente à vancomicina;</li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i>, resistente à meticilina, com sensibilidade intermediária e resistência à vancomicina;</li> <li>• <i>Helicobacter pylori</i>, resistente à claritromicina;</li> <li>• <i>Campylobacter</i> spp., resistente às fluoroquinolonas;</li> <li>• <i>Salmonellae</i>, resistentes às fluoroquinolonas;</li> <li>• <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, resistente a cefalosporina, resistente às fluoroquinolonas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Streptococcus pneumoniae</i>, sem sensibilidade à penicilina;</li> <li>• <i>Haemophilus influenzae</i>, resistente à ampicilina;</li> <li>• <i>Shigella</i> spp., resistente às fluoroquinolonas.</li> </ul>

Fonte: PAHO (Organização Pan-Americana da Saúde), 2017.

### 4.3 Mecanismos de resistência bacteriana

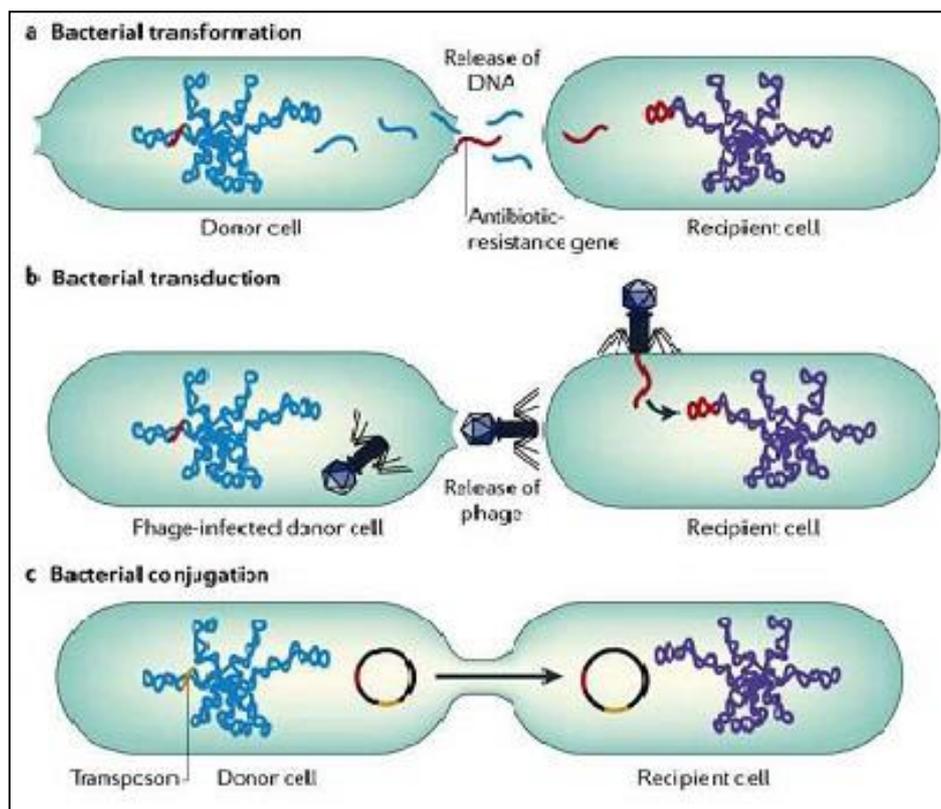
O uso descontrolado de antibacterianos aumentou a pressão seletiva sobre as bactérias, o que contribuiu para que as mesmas adquirissem mecanismos de resistência aos mesmos (EL KHAL, 2016). Em 1928, Alexander Fleming descobriu a primeira droga antibacteriana que revolucionou a história da Medicina, tornando possível o tratamento de doenças infecciosas bacterianas. Esta droga foi posteriormente denominada penicilina. Já em 1945, Alexander Fleming já havia alertado sobre o perigo do desenvolvimento da resistência bacteriana devido ao uso abusivo da penicilina (VENTOLA, 2015). Os primeiros relatos de RAM ocorreram na década de 1950, a partir de uma bactéria coliforme que não havia sido afetada pela penicilina, sendo capaz de inativá-la, indicando uma degradação enzimática da droga (CROSFTS; GASPARRINI; DANTAS, 2017). Nas décadas seguintes, o uso abusivo da penicilina nos hospitais foi relacionado ao desenvolvimento de resistência também em

*Staphylococcus aureus*, pela produção de  $\beta$ -lactamase, anteriormente chamadas de penicilinase, o que induziu uma diminuição significativa do uso dessa droga em infecções estafilocócicas (HAWKEY, 1988; CROSFITS; GASPARRINI; DANTAS, 2017).

A RAM pode ocorrer de três maneiras: a primeira é a resistência intrínseca, ou seja, o micro-organismo possui características que conferem uma resistência “natural”; a segunda é quando a bactéria adquire mecanismos de resistência por mutações em genes cromossômicos ou pela transferência horizontal de genes. O terceiro modo de resistência é pela formação de biofilmes, caracterizando uma resistência fisiológica (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

A resistência intrínseca ou natural está relacionada às características fenotípicas do micro-organismo, fazendo parte de sua herança genética e sendo transmitida verticalmente, sem alterações (VERDI et al., 2016). O que determina esta resistência é principalmente a presença ou ausência do alvo para a ação da droga. Assim, a correta identificação do agente etiológico, possibilitando a escolha do antimicrobiano, de acordo com os mecanismos de ação dos mesmos, diminui os riscos relacionados ao tratamento terapêutico (CUNHA, 2014).

Por sua vez, a resistência adquirida ocorre em uma espécie bacteriana anteriormente sensível a determinado fármaco que, pela aquisição de novas características manifestadas na espécie bacteriana, torna-se especificamente resistente a esse fármaco. Estas características estão ausentes nas células genitoras, sendo resultado da mutação de genes reguladores ou estruturais ou pela aquisição de genes que conferem a expressão de mecanismos de resistência. Estes genes podem ser veiculados por elementos genéticos móveis ou por mecanismos de transferência horizontal de genes como: transformação, transdução e conjugação (Figura 2) (VERDI, 2016; OLIVEIRA et al., 2014; COAN, 2014).



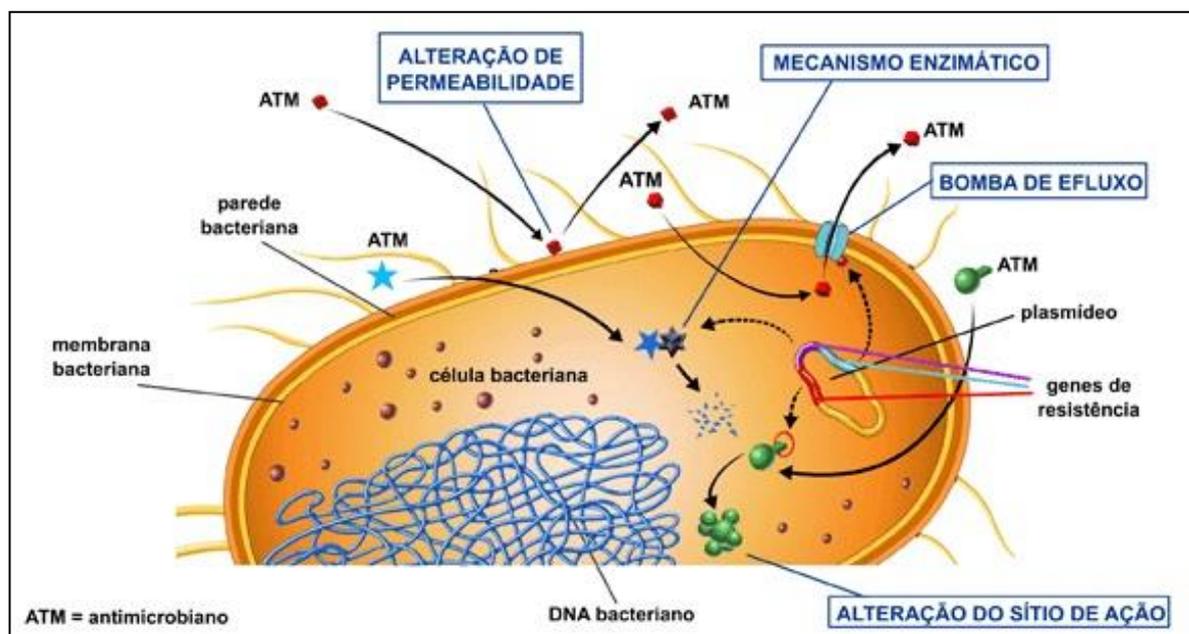
**Figura 2:** Representação ilustrativa da transferência horizontal de genes. (Fonte: Furuya; Lowy, 2006).

A transformação ocorre quando há lise de determinado micro-organismo com liberação de seu material genético para o meio externo. Desta forma, outra bactéria pode adquirir DNA livre, incorporando-o ao seu próprio genoma. Este DNA presente no meio externo pode conter genes de resistência que poderão ser então inseridos ao genoma da célula bacteriana receptora, no seu material cromossômico ou em plasmídeo (CUNHA, 2014). A transdução envolve a presença de bacteriófagos, que atuam como vetores de DNA. Desse modo, ao infectar outra bactéria, uma porção do DNA viral irá integrar-se ao DNA da bactéria infectada (PAULA et al., 2016). Já a conjugação é um processo que envolve a transferência de material genético contido em plasmídeos, de uma célula bacteriana para outra, através de *pili* conjugativo, podendo ocorrer entre bactérias da mesma espécie ou de espécies diferentes (PAULA et al., 2016).

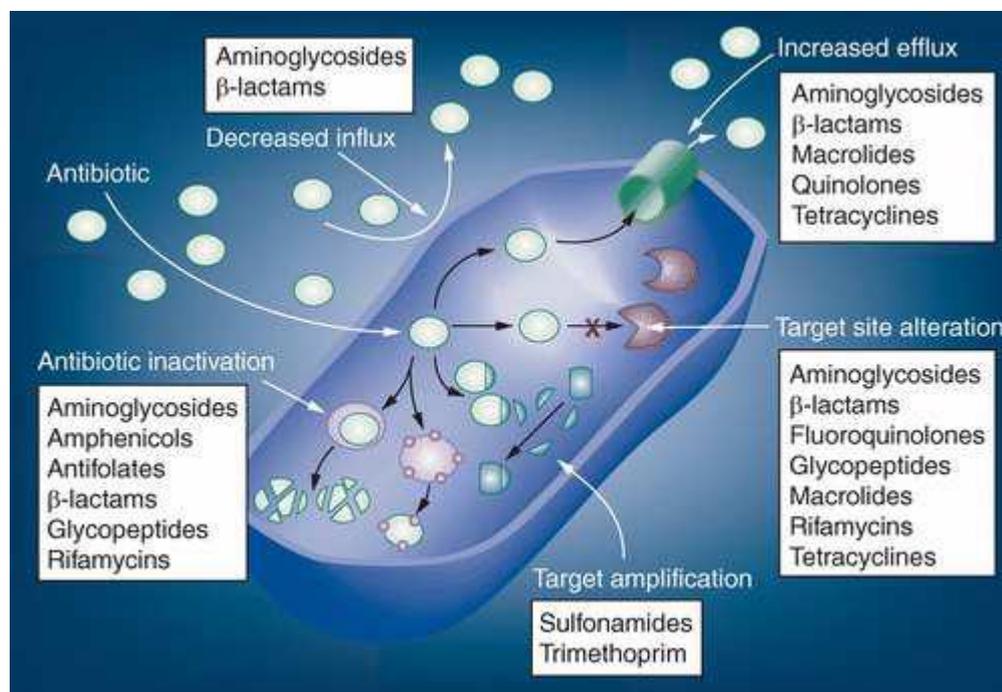
A resistência fisiológica ocorre pela formação de biofilmes microbianos, que são colônias de micro-organismos, caracterizados por células que estão irreversivelmente aderidas a um substrato ou interligados entre si, envolvidos e associados a uma matriz extracelular polissacarídica, responsável pela adesão entre as células e delas as superfícies (JUNIOR et al., 2015).

A formação de biofilmes envolve uma adesão primária de células microbianas a uma superfície biótica ou abiótica coberta por uma película condicionadora. Em seguida, há formação de microcolônias que se agrupam em multicamadas celulares e a síntese da matriz extracelular, composta por proteínas, ácidos nucleicos e exopolissacarídeos, formando o biofilme (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). Encontrados em diversos ambientes como: cateteres médicos, superfícies dentárias, feridas traumáticas, ambientes aquáticos, entre outros, os micro-organismos encontrados em biofilmes são protegidos contra a ação dos antimicrobianos (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). Em biofilmes, o antimicrobiano não é capaz de atingir todas as camadas, devido às células bacterianas ficarem envolvidas pela matriz extracelular, impedindo a penetração do fármaco no biofilme, assim há bactérias mais resistentes que são selecionadas pelo antibacteriano, possibilitando o seu crescimento e desenvolvimento, além de bactérias que são indiferentes à ação da droga e as apresentam células persistentes, cuja essas, representam uma fração pequena da comunidade bacteriana que fica inativa e protegida da ação dos antimicrobianos, além de, funcionarem como um reservatório de micro-organismos. Essa seleção ocorre devido às diferenças genéticas individuais, ou que cada micro-organismo possui. Nesse sentido, o antibacteriano é capaz de eliminar somente um determinado grupo bacteriano, enquanto outros grupos bacterianos desenvolvem-se e, se resistentes, podem transferir essa informação genética às futuras gerações (BLAIR et al., 2015; JUNIOR et al., 2015; PAULA et al., 2016).

Dentre os mecanismos bioquímicos, quatro são os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da RAM, que podem ocorrer isoladamente ou associados a outros, como: (i) alteração da permeabilidade da membrana, que impede ou dificulta a penetração do antibacteriano na célula; (ii) alteração do sítio alvo do antibacteriano; (iii) superexpressão de bombas de efluxo; (iv) produção de enzimas que degradam ou inativam o antibacteriano, podendo estes três últimos serem adquiridos também geneticamente. (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017; CROSFTS; GASPARRINI; DANTAS, 2017). Estes mecanismos estão representados na figura 3 e os antibacterianos afetados pelos mesmos estão citados na figura 4.



**Figura 3:** Representação dos diversos tipos de mecanismos de resistência bacteriana: Alteração de permeabilidade, bomba de efluxo, mecanismo enzimático e alteração do sítio alvo. (Fonte: Anvisa, 2007).



**Figura 4:** Antibacterianos afetados pelos diversos mecanismos de resistência bacteriana. (Fonte: Schmieder; Edwards, 2012).

### 4.3.1 Alteração da permeabilidade da membrana celular externa

A permeabilidade da membrana celular é de extrema importância para que o antibacteriano tenha o efeito desejado, seja ele bactericida ou bacteriostático. Em bactérias Gram-negativas, a membrana citoplasmática é formada por uma dupla camada de fosfolípidios e a membrana externa é formada, em sua maior parte, por lipopolissacarídeos (LPS). A passagem de substâncias para o espaço periplasmático e, posteriormente, para dentro da célula bacteriana é feito por proteínas denominadas porinas, que formam canais hidrofílicos. Diferenças na permeabilidade do antibacteriano podem estar relacionadas às alterações estruturais, no número, na seletividade ou no tamanho das porinas. Alguns antibacterianos, como os  $\beta$ -lactâmicos, fluoroquinolonas e tetraciclínas, conseguem penetrar em bactérias Gram-negativas por meio de porinas, presentes na membrana externa. Qualquer diminuição na função ou quantidade de porinas fará com que a bactéria desenvolva resistência ao antibacteriano, o que acarretará em diminuição dos níveis do fármaco no interior da bactéria (PAULA et al., 2016).

A diminuição da expressão de porinas, ou a expressão de uma variante de porina mais seletiva, faz com que algumas bactérias apresentem redução da permeabilidade da membrana ou da parede celular, impedindo que drogas antibacterianas tenham acesso a sítios alvos no interior da célula (CROSFTS; GASPARRINI; DANTAS, 2017).

### 4.3.2 Modificação do sítio alvo

A alteração do sítio alvo constitui um dos mais importantes mecanismos de resistência bacteriana. Este mecanismo ocorre por uma alteração em um determinado local da célula bacteriana, onde um fármaco específico atue. Isso impedirá qualquer efeito bactericida ou inibitório da droga. A aquisição, pela bactéria, de um gene codificador, que seja capaz de modificar o alvo original, é o principal mecanismo envolvido na modificação do sítio alvo. Para isso, a informação genética pode ser transportada por plasmídeos ou por transposons, ambos relacionados à inativação do alvo onde atua o antimicrobiano (Revisto por CUNHA, 2014).

Uma alteração nas proteínas ligadoras de penicilina (PBPs- *Penicillin-Binding Proteins*) é um exemplo de mecanismo relacionado à modificação do sítio alvo. Alterações nas PBPs podem ocorrer por: (i) substituição de aminoácidos, que promove a diminuição da afinidade entre antibacteriano e as PBPs; (ii) aquisição de novas PBPs; (iii) existência de

proteínas resultantes da recombinação entre genes que codificam PBPs associadas à expressão de suscetibilidade e PBPs que conduzem à resistência ao antibacteriano ou (iv) hiperprodução da proteína com conseqüente aumento do nível de resistência aos  $\beta$ -lactâmicos (BARROCAS, 2016).

### 4.3.3 Bombas de efluxo

As bombas de efluxo são mecanismos de resistência que podem afetar todas as classes de antimicrobianos. São proteínas membranares específicas, capazes de transportar o antimicrobiano para o meio extracelular, fazendo com que a concentração no meio intracelular seja menor que a necessária para que o efeito antibacteriano ocorra (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

As bombas de efluxo são encontradas em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, assim como em organismos eucarióticos. Podem transportar uma ampla gama de componentes estruturalmente semelhantes (incluindo antibacterianos de múltiplas classes) ou ser específica para um determinado substrato. Tais bombas podem estar associadas com a resistência a múltiplas drogas (AZEVEDO, 2014).

As bombas de efluxo são divididas em famílias e agrupadas de acordo com a homologia de uma sequência de aminoácidos e pela similaridade de mecanismos, sendo predominantes em diferentes tipos de bactérias. Dentro de cada família bacteriana há diversas bombas de efluxo (AZEVEDO, 2014), com diferentes especificidades aos antimicrobianos (PAULA, et al., 2016). As bombas de efluxo são classificadas em cinco diferentes classes de transportadores, sendo elas: 1- baixa resistência a multidrogas (SMR, do inglês, *Small Multidrug Resistance*); 2- extrusão de multidrogas e compostos tóxicos (MATE, do inglês, *Multidrug and Toxic compound Extrusion*); 3- cassete de ligação ao ATP (ABC, do inglês, *ATP-Binding Cassete*); 4- superfamília dos facilitadores principais (MFS, do inglês, *Major Facilitator Superfamily*) e 5- divisão de nodulação de resistência (RND, do inglês, *Resistance Nodulation Division*) (KUMAR; VARELA, 2013; COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

### 4.3.4 Inativação enzimática

A inativação ou degradação enzimática é resultante da inativação do fármaco a partir da produção de enzimas produzidas pelas bactérias (PAULA et al., 2016). O mecanismo

enzimático de resistência pode envolver três tipos de reações: hidrólise, transferência de um grupo químico ou processo de oxirredução (COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Um dos principais exemplos de inativação enzimática é a produção de  $\beta$ -lactamases, que hidrolisam o anel  $\beta$ -lactâmico das penicilinas e cefalosporinas (KUMAR; VARELA, 2013). Em sua estrutura, os antibacterianos apresentam grupos ésteres e aminas, que são susceptíveis a hidrolases. Estas hidrolases podem inativar a ação do antibacteriano por quebrar as ligações dos grupos ésteres e das aminas (PAULA et al., 2016).

A inativação dos antimicrobianos, por meio de transferência de um grupo funcional, como grupos acil, ribosil, fosforil ou tiol, é um mecanismo de resistência bacteriana que afeta diversas classes de antibacterianos. Dentre os mais susceptíveis estão os aminoglicosídeos, fosfomicina, macrolídeos, lincomicina e cloranfenicol (KUMAR; VARELA; 2013). A reação induz a formação de enzimas responsáveis pelo processo de adição de grupos químicos a sítios vulneráveis da molécula da droga (BLAIR et al., 2015). Por ser uma reação irreversível, o antibacteriano modificado, devido à mudança resultante em sua estrutura química, torna-se incapaz de ligar-se ao sítio alvo (KUMAR; VARELA; 2013).

Há ainda a inativação da molécula de um antibacteriano por meio de processo “redox”, onde ocorrem os processos de oxidação ou redução do fármaco, induzidos pelo micro-organismo (BAPTISTA, 2013).

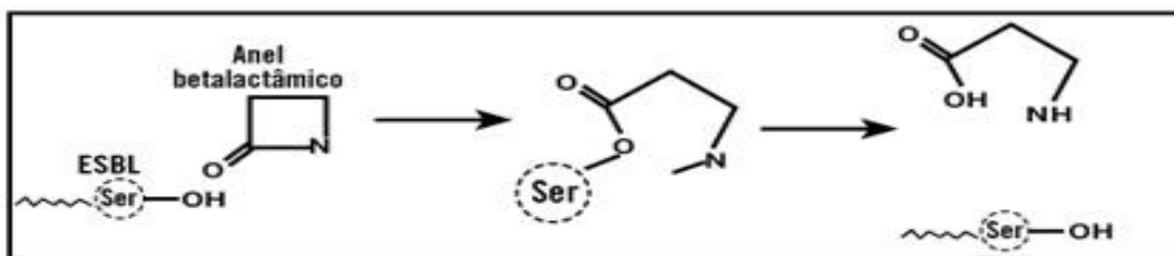
Na maioria das vezes, a utilização, pelo micro-organismo, de um destes três tipos de reações (hidrólise, transferência de um grupo químico ou processo de oxirredução) ou uma combinação dos três, pode resultar em certa dificuldade no curso de uma terapia antimicrobiana ideal, visto que estas reações podem representar uma resistência até aos antibacterianos mais promissores, independentemente da classe química às quais pertençam (CUNHA, 2014; COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

#### **4.4 Mecanismos de resistência aos $\beta$ -lactâmicos**

Os antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos caracterizam-se por apresentarem um anel  $\beta$ -lactâmico essencial para a sua atividade antibacteriana. São antimicrobianos bactericidas, que inibem a síntese da parede celular, interrompendo o processo de transpeptidação. Esse mecanismo é baseado na união do  $\beta$ -lactâmico a receptores específicos que encontram-se na superfície interna da membrana celular bacteriana, chamados de PBPs (ANVISA, 2007; AZEVEDO, 2014).

A resistência aos antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos é comum e ocorre por três mecanismos principais: 1) destruição por enzimas  $\beta$ -lactamases, sendo este o meio mais eficiente e comum das bactérias tornarem-se resistentes aos  $\beta$ -lactâmicos; 2) falha em alcançar as PBPs alvo, ou seja, impede o antimicrobiano de atingir o seu local de ação e 3) falha na ligação a PBP alvo. Estes mecanismos podem coexistir e, em alguns casos, exige uma combinação de mecanismos, como a diminuição da permeabilidade e a falta de ligação ao sítio alvo, no mesmo micro-organismo, para conferir resistência a este (ANVISA, 2007; CRESPO, 2010).

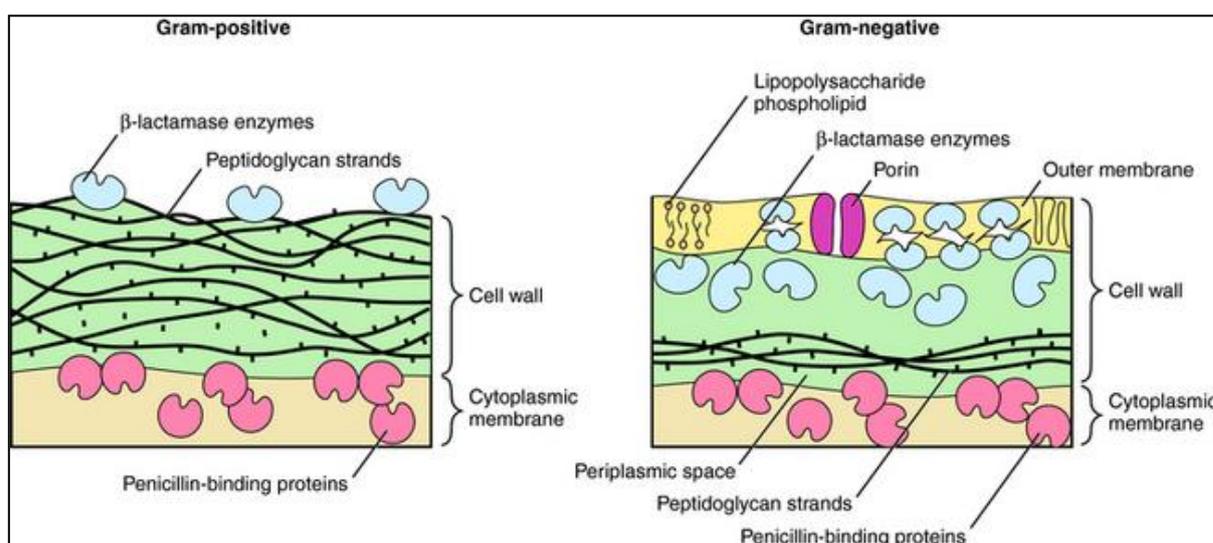
A atividade enzimática das  $\beta$ -lactamases pode ocorrer por dois possíveis mecanismos de ação: o primeiro utiliza o zinco (Zn) como cofator para a atividade enzimática e, o segundo, atua via éster de serina. Nem todas as  $\beta$ -lactamases possuem o primeiro tipo de mecanismo e são chamadas de metalo- $\beta$ -lactamases (classe B de Ambler). A outra parte das  $\beta$ -lactamases apresenta a via serina como o mecanismo de ação (classes A, C e D de Ambler), sendo essa a maioria. O anel  $\beta$ -lactâmico será atacado pela hidroxila livre da cadeia lateral do resíduo de serina, localizado no sítio ativo da enzima, produzindo um éster acil covalente, que sofrerá uma hidrólise e liberará a enzima ativa e o hidrolisado, que, nesse caso, é a droga inativada (Figuras 5) (WOLLHEIM, 2009).



**Figura 5:** Mecanismo de inativação dos  $\beta$ -lactâmicos por  $\beta$ -lactamases com serina no seu centro ativo. (Fonte: Silva, Lincopan, 2012).

Para que uma  $\beta$ -lactamase confira resistência bacteriana frente a um antimicrobiano  $\beta$ -lactâmico, vários fatores podem ser determinantes: (1) a localização celular da  $\beta$ -lactamase; (2) a taxa de hidrólise da enzima, dependente da concentração e da velocidade com que o antimicrobiano penetra pela membrana externa das bactérias Gram-negativas; (3) a afinidade do  $\beta$ -lactâmico pela  $\beta$ -lactamase; (4) o tipo de  $\beta$ -lactamase e, por último, (5) as condições físico-químicas (ex: pH, concentrações de Zn e CO<sub>2</sub>) (WOLLHEIM, 2009).

Em bactérias Gram-positivas, as  $\beta$ -lactamases são transportadas para o meio extracelular, diluindo-se no meio, sendo menos ativas do que as produzidas por bactérias Gram-negativas. Nas bactérias Gram-negativas, a parede celular bacteriana dificulta o acesso do  $\beta$ -lactâmico ao seu sítio de ação (PBPs, localizadas na membrana celular). As  $\beta$ -lactamases estão situadas no espaço periplasmático, essa localização faz com que a enzima alcance maiores concentrações e atue de modo mais eficaz sobre os antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos, que atravessam o espaço periplasmático para alcançar as PBPs (Figura 6) (ANVISA, 2007).



**Figura 6:** Localização da  $\beta$ -lactamase em bactéria Gram-positiva e Gram-negativa. (Fonte: Crespo, 2010).

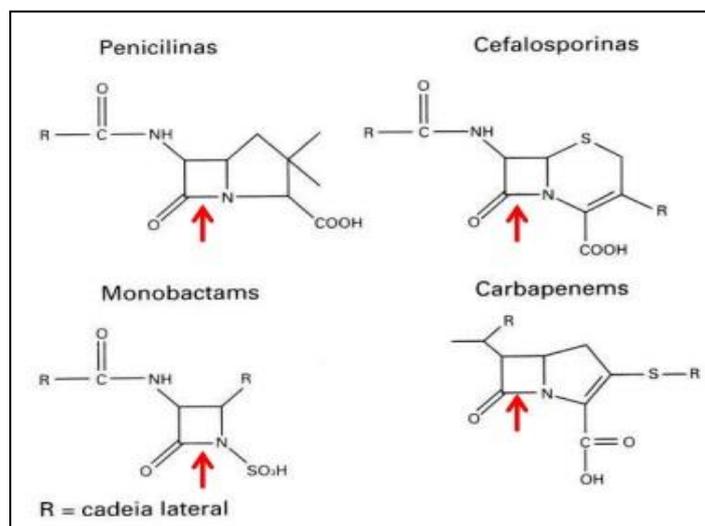
As principais formas de resistência de bactérias Gram-positivas aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos são uma consequência de produção de  $\beta$ -lactamases ou PBPs alteradas. Esse tipo de resistência ocorre pela disseminação de genes que codificam  $\beta$ -lactamases, transmitidos por plasmídeos. Outro mecanismo é a presença de PBPs que não se ligam corretamente ao  $\beta$ -lactâmico, seja por características estruturais intrínsecas ou aquisição de alterações por mutação (CRESPO, 2010).

Em bactérias Gram-negativas as formas comuns de resistência resultam da presença de  $\beta$ -lactamases e da falha do fármaco em alcançar as PBPs adjacentes à membrana externa. As bactérias Gram-negativas produzem uma maior variedade de  $\beta$ -lactamases do que as Gram-positivas, codificadas por genes cromossômicos ou plasmidiais (CRESPO, 2010).

As mutações que ocorreram em  $\beta$ -lactamases preexistentes, após a introdução de novos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos produziram as ESBLs (CRESPO, 2010).

#### 4.4.1 $\beta$ -lactamases

As  $\beta$ -lactamases são as principais enzimas que degradam a estrutura química de antibacterianos como penicilinas, cefamicinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenens (Figura 7), pela catálise hidrolítica do anel  $\beta$ -lactâmico, anulando a propriedade bactericida desses fármacos. Desse modo, ocorre falha no mecanismo de ação desses antibacterianos, permitindo a biossíntese normal da parede celular bacteriana, o que na maioria das vezes, leva à falha terapêutica (ANDRADE; DARINI, 2017). A descoberta de  $\beta$ -lactamases precede a descoberta da penicilina. Acredita-se que a enzima possua um papel importante na montagem do peptidoglicano da parede celular bacteriana. Os genes que codificam  $\beta$ -lactamases (*bla*) podem estar no cromossomo bacteriano (como no caso da  $\beta$ -lactamase AmpC) ou em plasmídeos. A  $\beta$ -lactamase TEM-1, por exemplo, foi a primeira a ser descoberta em um plasmídeo de *E. coli* (revisto por KUMAR; VARELA; 2013). A produção de  $\beta$ -lactamases é considerada o mais importante e o principal mecanismo de resistência contra agentes  $\beta$ -lactâmicos dentre as bactérias Gram-negativas, sendo *K. pneumoniae* e *E. coli* as principais espécies produtoras desta enzima (CUNHA, 2014).



**Figura 7:** Local de ataque das  $\beta$ -lactamases nos antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos: Penicilinas, Cefalosporinas, Monobactams e Carbapenems. (Fonte: Baptista, 2013).

O mecanismo de ação de todos os antibacterianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos (Tabela 2) ocorre pela inibição da formação da parede celular bacteriana, pela ligação do  $\beta$ -lactâmico às PBPs. Estas enzimas bacterianas atuam no processo de transpeptidação, durante a biossíntese da parede celular e são alvo de ação de drogas  $\beta$ -lactâmicas. A capacidade da  $\beta$ -

lactamase conferir resistência depende da quantidade de enzima produzida, da capacidade ou não de hidrólise do antibacteriano (potência), assim como da velocidade de penetração deste na membrana externa de bactérias Gram-negativas (ANDRADE; DARINI, 2017).

Tabela 2: Classificação dos antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos.

<b>Classe/Categoria</b>	<b>Sub-classes</b>	<b>Exemplo, nome genérico (sigla)</b>
<b>PENICILINAS</b>	<b>Penicilinas naturais</b>	
	Aminopenicilinas	Amoxicilina (AMX) Ampicilina (AMP)
	Ureidopenicilinas	Piperacilina (PIP) Mezlocilina (MEZ)
	Carboxipenicilinas	Carbenicilina (BAR) Ticarcilina (TIC)
	<b>Penicilinas estáveis à penicilinase</b>	Oxacilina (OXA) Meticilina (MET) Cloxacilina (CLO)
<b>Combinação Beta-lactâmico (Penicilinas) -Inibidor de <math>\beta</math>-lactamase</b>		Amoxicilina-ácido clavulânico (AMC) Ampicilina-sulbactam (AMS) Piperacilina-tazobactam (PTZ) Ticarcilina-ácido clavulânico (TIM)
<b>CEFENS</b>	Cefalosporinas de 1 <sup>a</sup> geração	Cefazolina (CFZ) Cefalotina (CEP) Cefalexina (LEX)
	Cefalosporinas de 2 <sup>a</sup> geração	Cefuroxima (CFX) Cefaclor (CEC)
	Cefalosporinas de 3 <sup>a</sup> geração (amplo espectro)	Cefotaxima (CTX) Ceftriaxona (CRO) Ceftazidima (CAZ)
	Cefalosporinas de 4 <sup>a</sup> geração (amplo espectro)	Cefepima (CPM) Cefpodoxima (CPD)
	Cefalosporinas com atividade anti-MRSA*	Ceftaroline (CPT) Ceftobiprole (BPR)
	Cefamicinas	Cefoxitina (FOX) Cefotetan (CTT)

Continua

Continuação

<b>CEFENS</b>	Oxacefens	Moxalactam (MOX)
	Carbacefens	Loracarbef (LOR)
<b>Combinação β-lactâmico (Cefalosporinas)- Inibidor de β-lactamase</b>		Ceftazidime- avibactam (CZA) Ceftaroline- avibactam (CPA)
<b>MONOBACTÂMICO</b>		Aztreonam (ATM)
<b>PENENS</b>	Carbapenêmicos	Ertapenem (ERT) Imipenem (IPM) Meropenem (MER) Doripenem (DOR)
	Penens	Faropenem (FAR)

\*MRSA/ORSA (do inglês Methicillin/Oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*): *Staphylococcus aureus* resistente à metilina/oxacilina. Fonte: *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2016).

As primeiras β-lactamases foram nomeadas utilizando-se critérios como a espécie da bactéria ou plasmídeo nos quais foram detectadas. Em seguida, a denominação das enzimas também foi baseada em características isoeletricas, propriedades bioquímicas, substratos, etc. Posteriormente, os autores que caracterizaram uma β-lactamase pela primeira vez adicionaram à nomenclatura utilizada, características como, o local onde a enzima foi detectada, nome do paciente do qual a bactéria produtora da β-lactamase foi isolada, entre outros dados não bioquímicos ou genéticos. Por exemplo: **CMY**: ativa sobre cefamicinas (do inglês *cephamycins*); **TEM**: nome da paciente (Temoneira) na qual foi detectada pela primeira vez; **SHV**: do inglês *Sulphydryl reagent variable*; **CTX-M**: maior atividade contra cefotaxima e **OXA**: ativa sobre oxacilina (ANDRADE; DARINI, 2017).

No ponto de vista genético, as β-lactamases são codificadas por genes designados “*bla*” seguidos pela denominação fenotípica da enzima, como por exemplo, CMY, CTX-M e OXA sendo assim denominados: *bla*CMY, *bla*CTX-M e *bla*OXA (ANDRADE; DARINI, 2017).

Segundo Cunha (2014), as β-lactamases foram classificadas por Ambler em 1980 e por Bush, Jacoby e Medeiros em 1995. A classificação proposta por Ambler baseia-se na estrutura molecular das enzimas e incluem todas as β-lactamases descritas em quatro classes: A, C e D, que são serina-β-lactamases, as quais possuem um aminoácido serina no centro ativo da enzima; e classe B, que são metalo-β-lactamases (MBL), as quais são dependentes de

um metal (geralmente zinco) como cofator para a atividade enzimática. Por outro lado, Bush, Jacoby e Medeiros reuniram as enzimas, correlacionando seus substratos e perfis de inibição em grupos de 1 a 4, com subdivisões nos mesmos. O grupo 1 são as cefalosporinases, que não são inibidas pelo ácido clavulânico, o grupo 2 são  $\beta$ -lactamases que são inibidas por inibidores das  $\beta$ -lactamases e pertencem ao grupo A ou D de Ambler, o grupo 3 são as metalo- $\beta$ -lactamases que são pobremente inibidas por inibidores; e o grupo 4 são as penicilinas que não são inibidas pelo ácido clavulânico (CUNHA, 2014; BARROCAS, 2016). Os esquemas de classificação baseados na associação da classe molecular de Ambler e Grupos de Bush, Jacob e Medeiros foram revisados e atualizados por Bush e Jacoby em 2010 (Tabela 3) (CUNHA, 2014).

Tabela 3: Classificação das  $\beta$  -lactamases segundo Bush e Jacoby (2010), resumida e adaptada.

<b>Grupo Bush e Jacoby</b>	<b>Classe Molecular Ambler</b>	<b>Substratos</b>
<b>1</b>	C	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> - 2 <sup>a</sup> geração, cefamicinas
<b>1e</b>	C	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> -3 <sup>a</sup> geração, cefamicinas e monobactâmicos
<b>2be</b>	A	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> -4 <sup>a</sup> geração, e monobactâmico
<b>2bre</b>	A	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> -4 <sup>a</sup> geração, e monobactâmicos
<b>2de</b>	D	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> -4 <sup>a</sup> geração
<b>2df</b>	D	Carbapenêmicos
<b>2f</b>	A	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> -4 <sup>a</sup> geração, cefamicinas, monobactâmico e carbapenêmicos
<b>3a</b>	B (MBL) <sup>1</sup>	Cefalosporinas 1 <sup>a</sup> -4 <sup>a</sup> geração, cefamicinas e carbapenêmicos
<b>4</b>	Não determinada	Penicilinas

A evolução das  $\beta$ -lactamases bacterianas está diretamente relacionada ao desenvolvimento de antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos. Logo que antibacterianos resistentes à ação

das  $\beta$ -lactamases clássicas, como as cefalosporinas, cefamicinas, carbapenêmicos e aztreonam, foram inseridos como opção terapêutica, relatou-se o aumento da capacidade bacteriana em produzir uma variedade de novas enzimas que degradam esses fármacos, o que, conseqüentemente, ocasionou uma diminuição das opções terapêuticas e o aumento das chances de terapia ineficaz (OLIVEIRA, 2013).

Para combater o efeito das  $\beta$ -lactamases, a indústria farmacêutica desenvolveu fármacos especiais, que combinam um  $\beta$ -lactâmico com um inibidor da  $\beta$ -lactamase, por exemplo, ácido clavulânico, sulbactam e tazobactam. Esses inibidores de  $\beta$ -lactamases foram inicialmente desenvolvidos como antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos, entretanto, por possuírem um potencial bactericida muito fraco, não podem ser utilizados isoladamente na prática clínica. O motivo que os tornam “inibidores” é a maior afinidade que possuem pelas  $\beta$ -lactamases em comparação com outros  $\beta$ -lactâmicos (ex: amoxicilina, ampicilina, piperacilina). Quando ocorre a associação entre uma penicilina e um inibidor de  $\beta$ -lactamases, os inibidores são degradados mais rapidamente que as penicilinas, formando um complexo irreversível. Assim, as penicilinas ficam livres para exercerem sua atividade bactericida dentro da célula bacteriana, interrompendo a síntese da parede celular (OLIVEIRA et al., 2014; ANDRADE; DARINI, 2017).

#### 4.4.2 $\beta$ -lactamases de amplo espectro – ESBL

Como citado anteriormente, as  $\beta$ -lactamases são enzimas ativas com o potencial de inibir a ação dos antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos, mediadas principalmente por genes plasmidiais. Juntamente com a introdução de novos  $\beta$ -lactâmicos, notou-se que algumas bactérias desenvolveram mecanismos de resistências a fármacos como cefalosporinas de espectro estendido, monobactâmicos e demais combinações desses fármacos. As  $\beta$ -lactamases que apresentaram potencial de inibição aos fármacos de espectro estendido foram denominadas  $\beta$ -lactamases de amplo espectro ou ESBLs. Entretanto, as ESBLs são inativadas quando expostas ao ácido clavulânico, subactam ou tazobactam, associados aos  $\beta$ -lactâmicos (PAULA et al, 2016). Essas enzimas são transmitidas ou codificadas por plasmídeos, dentro das famílias Temoniera (TEM), Sulfidril variável (SHV) e Oxacilina (OXA) (CUNHA 2014).

As enzimas que apresentam as características ESBL são principalmente as CTX-M, SHV, OXA e as TEM. Podem ser encontradas particularmente em Enterobacteriaceae, com maior frequência em *E. coli* e *K. pneumoniae*, porém, devido à localização plasmidial

dos genes, estes podem ser transferidos para qualquer espécie bacteriana (OLIVEIRA, 2013; BARROCAS, 2016), por exemplo, os não fermentadores como *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas* spp. Procedem de uma mutação do gene *bla* na região que codifica TEM-1, -2, SHV-1 e OXA-10. Estas enzimas não hidrolisam cefalosporinas de 3ª geração e, quando mutadas, originam as ESBLs (BARROCAS, 2016). Segundo Cunha (2014), dentro da família Enterobacteriaceae, *K. pneumoniae* é a espécie que apresenta a maior variedade de fenótipos de resistência associados à produção de ESBL e é onde a produção destas enzimas é frequentemente mais encontrada.

O primeiro relato de infecção causada por bactérias produtoras de ESBL foi a partir de um isolado clínico de *E. coli*, em 1989, na Alemanha. Naquela época, a nova enzima foi chamada de CTX-M-1, caracterizada pela maior capacidade de hidrolisar cefotaxima à ceftazidima. Já o primeiro relato, fora do ambiente hospitalar, ocorreu em 1998, na Irlanda, quando uma amostra de *E. coli* foi isolada da urina de um paciente idoso, sem história recente de hospitalização, mas com história de uso de múltiplos antibacterianos (revisto por OLIVEIRA, 2013).

Avibactan é uma nova classe de inibidores de  $\beta$ -lactamase não  $\beta$ -lactâmico, com um espectro de atividade mais amplo do que ácido clavulânico e os inibidores de sulfona. Avibactan inibe potencialmente as penicilinas de Classe A, ESBLs e carbapenemases de serina. Entretanto, as cefalosporinas de classe C e algumas oxacilinas de classe D também são efetivamente inibidas. O avibactam foi aprovado para uso terapêutico em combinação com ceftazidima, mas estão em desenvolvimento as combinações ceftarolina-avibactama ou aztreonam-avibactama (revisto por BUSH; BRADFORD, 2017).

#### 4.4.3 Carbapenemases

As carbapenemases são  $\beta$ -lactamases com maior espectro e um maior potencial de degradação de quase todos os antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos (ANDRADE; DARINI, 2017). Estas enzimas são produzidas por bactérias Gram-negativas, especialmente as enterobactérias, que conferem resistência aos antibacterianos da classe dos carbapenêmicos como, Meropenem, Ertapenem, Imipenem, além de serem capazes de inativar agentes  $\beta$ -lactâmicos, como cefalosporinas, penicilinas e monobactâmicos. Os primeiros relatos sobre bactérias produtoras de carbapenemases ocorreram inicialmente na Carolina do Norte, Estados Unidos, em 1996, após o isolamento de uma cepa de *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos,

sendo a amostra identificada e denominada *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC). Devido ao seu poder de hidrolisar a grande maioria dos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos disponíveis no mercado, as carbapenemases são consideradas as enzimas mais versáteis dentre  $\beta$ -lactamases (CUNHA, 2014).

O primeiro relato de KPC no Brasil foi publicado em 2009, em Recife, descrevendo quatro cepas recuperadas em 2006 de pacientes hospitalizados na UTI de um hospital. Além de KPC, as cepas produziam outras  $\beta$ -lactamases tais como CTX-M-2, SHV e TEM. Entretanto, há relatos de que as primeiras cepas de KPC foram inicialmente isoladas no Brasil, em 2005, no estado de São Paulo, de acordo com um relatório de vigilância de bactérias Gram-negativas resistentes aos antimicrobianos carbapenêmicos, realizada na região sudeste do Brasil. Além da resistência a todos os  $\beta$ -lactâmicos testados, as amostras apresentavam resistência a outras classes de antimicrobianos, como por exemplo, às fluoroquinolonas, o que limitava as opções terapêuticas à gentamicina, tigeciclina ou polimixina (JUNIOR, 2014).

Além da *K. pneumoniae*, a enzima carbapenemase já foi descoberta em outros representantes da família Enterobacteriaceae como *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* e *Serratia* spp. Também há relatos de que sua presença já foi encontrada em espécies de não fermentadores, mostrando sua disseminação entre espécies e gêneros bacterianos (FRANCO, 2017).

Atualmente, há três classes de carbapenemases em enterobactérias, distribuídas mundialmente: (1) as MBL (Metallo- $\beta$ -Lactamases), sendo os tipos IMP (Resistente a Imipenem), VIM (Metallo- $\beta$ -lactamase codificada por integron de Verona) e NDM (*New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase*) frequentemente as mais detectadas em enterobactérias; (2) as OXA-carbapenemases; e (3) as carbapenemases do tipo KPC (VAN DUIN, 2017). Do ponto de vista epidemiológico, as enzimas de maior relevância são as carbapenemases do tipo KPC e as do tipo NDM, devido ao alto, rápido e amplo potencial de disseminação mundial (CUNHA, 2014). As carbapenemases são classificadas por suas estruturas moleculares e pertencem às classes A, B e D de Ambler (LOGAN; WEINSTEIN, 2017).

A crescente demanda pelo uso de carbapenêmicos está relacionada ao fato de que muitas bactérias Gram-negativas, produtoras de ESBL, têm apresentado perfil de resistência a antimicrobianos não  $\beta$ -lactâmicos, como aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, tetraciclínas e sulfametoxazol-trimetoprim. Assim como ocorrido com as cefalosporinas de amplo espectro, a seleção e disseminação de bactérias resistentes a estes antimicrobianos têm ocorrido de

modo preocupante, devido à utilização abusiva de carbapenêmicos (ANDRADE; DARINI, 2017).

Em algumas espécies bacterianas, as carbapenemases foram descritas inicialmente como  $\beta$ -lactamases codificadas apenas por genes cromossômicos. No entanto, genes codificadores de carbapenemases em plasmídeos chegaram a ser relatados na década de 1990. Atualmente, a aquisição de genes que codificam carbapenemases tem sido mostrada com maior frequência em bactérias Gram-negativas, o que faz com que as carbapenemases tenham um importante papel no aumento da resistência aos carbapenêmicos (ANDRADE; DARINI, 2017).

Devido à dificuldade no tratamento das infecções por enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos, houve um aumento mundial no uso das polimixinas (polimixinas B e colistina), usadas como última opção terapêutica dessas infecções. A polimixina está entre os poucos antibacterianos que possuem ação efetiva contra os microrganismos envolvidos nestas condições infecciosas, sendo utilizada normalmente em combinação com outros fármacos, incluindo carbapenêmicos. Entretanto, relatos sobre a resistência às polimixinas já estão sendo descritos, devido ao crescente uso desses antimicrobianos (GONÇALVES, 2016).

#### **4.5 Medidas de controle**

A crescente prevalência de micro-organismos multirresistentes representa um importante problema de saúde pública. A resistência a múltiplos antimicrobianos torna impróprio muitos dos regimes usados na terapia de doenças infecciosas. Nesse contexto, a melhor estratégia de defesa contra a disseminação da RAM é o uso cauteloso de antimicrobianos em ambientes clínicos, associado a práticas cuidadosas de controle de infecções cruzadas (QUEIROZ et al 2012).

Cabe salientar que o uso irracional e descontrolado de antimicrobianos contribui para o crescente aumento dos índices de infecções por micro-organismos multirresistentes tanto em ambientes hospitalares, devido ao tratamento inadequado, assim como na comunidade (QUEIROZ, et al 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Nos países em desenvolvimento, a prescrição e uso de antimicrobianos são mais elevados, principalmente nas UTIs. Este alto consumo resulta em pressão seletiva, sendo esta a principal responsável pelo aumento da circulação de amostras resistentes e multirresistentes de micro-organismos. Estes fatos, associados à existência de clones dominantes e falhas nas

práticas básicas de prevenção e controle de infecções, explicam a disseminação deste microrganismo no ambiente hospitalar (GONÇALVES, 2016).

O diagnóstico adequado, com identificação do agente infeccioso, associado a um perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, contribui para o sucesso terapêutico no tratamento de doenças infecciosas bacterianas. Uma vez estabelecido o diagnóstico, o antibacteriano deve ser escolhido considerando a sensibilidade do agente etiológico, além do perfil farmacocinético (absorção, distribuição, metabolismo e excreção). Assim como a escolha de um esquema adequado de posologia que inclua a dose, intervalos entre as administrações e a duração do tratamento (FRANCO, 2017).

Uma das principais formas de controle das IRAS é a prevenção, uma vez que um tratamento terapêutico pode apresentar alta complexidade. A participação dos profissionais de saúde é de suma importância para a eficiência destas ações de controle, tendo especial atenção à higienização das mãos de todas as pessoas que visitam o ambiente hospitalar, o isolamento de pacientes com quadros infecciosos causados por microrganismos multirresistentes, assim como a limpeza dos locais envolvidos. Tais atos constituem as providências básicas para evitar a dispersão desses micro-organismos (CUNHA, 2014).

O controle das IRAS representa uma melhoria na qualidade do atendimento e da assistência ao paciente, desde que atenda às exigências éticas e legais. Quando seguidas da maneira correta, estas práticas podem reduzir a morbidade e mortalidade dos pacientes, assim como dos custos associados ao tratamento dos quadros infecciosos (CUNHA, 2014).

Diante do crescente aumento da RAM, a ANVISA, na tentativa de mudar os hábitos da população brasileira e diminuir o número de infecções por bactérias resistentes aos antimicrobianos, estipulou, em 2011, novas regras para a compra de medicamentos antimicrobianos em farmácias. De acordo com esta resolução, uma das principais regras estipula que os antibacterianos sejam vendidos somente com prescrição médica, com receituário em duas vias e com o prazo de validade de até dez dias. É esperado que as medidas propostas contribuam para a redução do número de casos de mortalidade e morbidade ocasionados por esses micro-organismos (QUEIROZ, et al 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Em relação à terapia antimicrobiana de doenças infecciosas por enterobactérias produtora de ESBL, há poucas opções disponíveis, sendo, muitas vezes, necessária a combinação de drogas, uma vez que o uso da monoterapia pode estar relacionado a um rápido desenvolvimento de RAM. Novos fármacos estão em estudo, no entanto, sabe-se que as

bactérias apresentam contínua capacidade de desenvolver RAM, por diversos mecanismos, como já mencionados, além de mecanismos de evasão do tratamento, diluindo assim os esforços de prevenção. Logo, faz-se necessária a conscientização dos profissionais de saúde e de toda a população sobre as medidas de controle e prevenção de RAM, tendo em vista um problema que só evolui (GONÇALVES, 2016; FRANCO, 2017).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre os principais problemas relacionados à RAM está a produção de enzimas ESBLs por Enterobacteriaceae, que provocam uma alteração no perfil de resistência desse grupo bacteriano. Atualmente, essas enzimas representam o maior grupo de  $\beta$ -lactamases estudado mundialmente, sendo motivo de extensivas investigações microbiológicas. As ESBLs são enzimas que conferem resistência às cefalosporinas de amplo espectro, como a cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, e ao monobactâmico aztreonam. São produzidas, principalmente, por *Klebsiella* sp. e *E. coli*. Existem alguns antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos que conservam a sua atividade diante de enterobactérias produtoras de ESBLs, como, por exemplo, os carbapenêmicos. Estes são mais efetivos e possuem maior resistência à hidrólise por ESBLs. Porém, o seu uso também deve ser moderado, já que tem sido demonstrado um aumento da resistência a esses fármacos, em outras espécies bacterianas. O grau de resistência desses micro-organismos irá depender da quantidade de enzima produzida, da habilidade dessa enzima em hidrolisar o antimicrobiano em questão e da velocidade com que o  $\beta$ -lactâmico irá penetrar pela membrana externa da bactéria.

A OMS reconhece a RAM como uma séria ameaça à saúde global, principalmente no que diz respeito a doenças infecciosas por bactérias da espécie *K. pneumoniae* resistentes a carbapenêmicos, produtoras de ESBL, sendo responsáveis pela maior parte das mortalidade relacionadas às IRAS.

O aparecimento da RAM é uma consequência da utilização irracional e descontrolada de antimicrobianos. Enquanto o uso de antimicrobianos é essencial para tratar doenças infecciosas, o uso indevido ocorre, de forma significativa, em grande parte do mundo, geralmente sob a forma de uso abusivo e desnecessário, o que aumenta a pressão seletiva sobre as bactérias para que desenvolvam a RAM. Considerando que a RAM é um problema complexo, com diversos fatores relevantes e de difícil solução, enfrentá-la de forma eficaz envolve, necessariamente, a contribuição de todos os segmentos da sociedade.

A multirresistência de bactérias da família Enterobacteriaceae tem limitado as opções terapêuticas, tendo, como consequência direta, o aumento no tempo de hospitalização do paciente e na utilização de fármacos de última escolha, (aumentando a morbidade e/ou mortalidade), o que contribui para a seleção de bactérias resistentes.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. P.; BEHAR, P. R. P. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de KPC em um hospital terciário do sul do Brasil. **Revista da AMRIGS**, v. 57, n. 3, p. 213-218, 2013.

ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L. C. Bacilos Gram-negativos produtores de beta-lactamases: que *bla bla bla* é esse? **Journal of Infection Control**. v. 6, n. 1. 2017. Disponível em: <<http://www.jic.abih.net.br/index.php/jic/article/view/173/pdf>>. Acesso em: 05 de junho de 2017.

ANVISA. **Deteção e identificação de bactérias de importância médica. Enterobacterias.** Modulo V. pag 14. 2004. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod\\_5\\_2004.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_5_2004.pdf)>. Acesso em: 15 de agosto de 2017.

ANVISA. **Resistência microbiana - Mecanismos e impacto Clínico. Mecanismos de resistência bacteriana aos antimicrobianos.** Modulo III. 2007. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo3/mecanismos.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo3/mecanismos.htm)>. Acesso em: 29 de outubro de 2017.

AZEVEDO, S. M. M. **Farmacologia dos antibióticos beta-lactâmicos.** Monografia (Dissertação de Mestrado) - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2014.

BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de resistência aos antibióticos.** Monografia (Dissertação de Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa. 2013.

BARROCAS, A. R. F. **Epidemiologia das beta-lactamases CTX-M, em bactérias Gram-negativo, em Portugal.** Monografia (Dissertação de Mestrado) em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2016.

BLAIR, J. M. et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**. v. 13, p. 42- 51, 2015.

BROLUND, A. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. **Infection Ecology & Epidemiology**, 4:1, 24555. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3402/iee.v4.24555>>

BUSH, K; BRADFORD, P. A.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**. 2016. Disponível em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/6/8/a025247>>

BUSH, K; JACOBY, G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. 2010;54(3):969-976. doi:10.1128/AAC.01009-09. Disponível em:< <http://aac.asm.org/content/54/3/969>>.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical Lab Standards Institute. M100S (26th Edition). USA. 2016.

COAN, M. M. **Detecção de genes codificadores de resistência a antimicrobianos de importância clínica em amostras de carne de frango**. Monografia (Dissertação de Mestrado) - Curso de Mestrado em Serviços de saúde pública. Faculdade de Saúde Pública. Universidade de São Paulo. 2014.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. **Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura**. Estação Científica (UNIFAP), Macapá, v. 7, n. 2, p. 45-57, maio/ago. 2017. Disponível em: <https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/view/2555/andersonv7n2.pdf>>

CRESPO, L. Bacterial cell wall synthesis inhibitors. In WECKER, L.; DUNAWAY, G.; FAINGOLD, C.; WATTS. S. **Brody's Human Pharmacology - Molecular to Clinical**. 5th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2010. p. 529 - 531.

CROFTS, T. S.; GASPARRINI, A. J.; DANTAS, G. Next-generation approaches to understand and combat the antibiotic resistome. **Nature Reviews Microbiology**. 15(7): 422-434. 2017.

CUNHA, V. O. **Bactérias multirresistentes: *Klebsiella pneumoniae*: carbapenemase – Enzima KPC nas Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS)**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2014.

DJAHMI, N. et al. Epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* in Mediterranean countries. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

EL KHAL, A. **Isolamento e caracterização genômica de bacteriófagos quanto ao seu potencial de uso terapêutico em infecções causadas por enterobactérias**. Fundação Oswaldo Cruz. Belo Horizonte. 2016.

FIGUEIRAL, A. C. D.; FARIA, M. G. I. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase: um problema sem solução? **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 9, n. 1, p. 45-48, 2015.

FRANÇA, E. B. et al. Leading causes of child mortality in Brazil, in 1990 and 2015: estimates from the Global Burden of Disease study. **Revista brasileira de epidemiologia**. São Paulo, v. 20, supl. 1, p. 46-60, May 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-790X2017000500046&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2017000500046&lng=en&nrm=iso).

FRANCO, M. M. B. **Etiologia e resistência bacteriana em unidades de terapia intensiva através de culturas de vigilância**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Natal, 2017. Disponível em: [https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/23573/1/MayaraMariaBastosFranco\\_DISSERT.pdf](https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/23573/1/MayaraMariaBastosFranco_DISSERT.pdf).

FURUYA, Y., LOWY, F. Antimicrobial resistant bacteria in the community setting. **Nature Reviews Microbiology**. 4(1), 36-45. 2006.

GONÇALVES, I. R. **Infecções por Enterobacteriaceae resistente aos carbapenêmicos em hospital de ensino: epidemiologia e caracterização molecular**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicada. 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/17589/1/InfecoesEnterobacteriaceaeResistente.pdf>.

HAWKEY, P. M. **The origins and molecular basis of antibiotic resistance**. *BMJ*. 317: 657-660, 1988.

JUNIOR, C. F. **Caracterização de cepas de Enterobacteriaceae resistentes a carbapenens isoladas no Distrito Federal**. Brasília-DF. 2014. Disponível em: <http://www.pgbm.unb.br/images/sampled/data/dissertacoes/2014/Celio%20de%20Faria%20Junior.pdf>.

JUNIOR, A. S. et al. Infecções por bactérias formadoras de biofilme: breve revisão. **Revista Brasileira de Medicina Interna**. 2015. Disponível em: <http://www.rbmi.com.br/artigos/volume2/pg%2037%20a%2047.pdf>.

KUMAR, S.; VARELA, M. F. Molecular mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. Microbial pathogens and strategies for combating them: **Science, technology and education**, Formatex, p. 522-534. 2013.

LOGAN, L. K.; WEINSTEIN, R. A.; The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace, **The Journal of Infectious Diseases**, Volume 215, Issue suppl\_1, 15, Pages S28–S36. February, 2017.

MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. J. Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: types and molecular epidemiology. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 32, p. 4-9, 2014.

OLIVEIRA, et al. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. **Uningá Review**. V.20, n.3, pp.65-71. 2014.

OLIVEIRA, M. C. **Enterobacteriaceae resistentes às cefalosporinas de terceira geração isoladas em amostras obtidas nas primeiras 48 horas de internação em um hospital geral**: frequência, fatores de risco e impactos na evolução clínica. Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana** Opções de ação. 2012. Disponível em:  
<[http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503181\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503181_eng.pdf)>

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (Brasil). **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente**. 2017. Disponível em: <[http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812)>. Acesso em: 11 de maio de 2017.

PAULA, V. G. et al. **Enterobactérias produtoras de carbapenemase**: prevenção da disseminação de superbactérias em UTI's. *Universitas: Ciências da Saúde*, Brasília, v. 14, n. 2, p. 175-185, jul./dez. 2016.

QUEIROZ, G. M. et al. Multiresistência microbiana e opções terapêuticas disponíveis. **Rev Bras Clin Med**. São Paulo, mar-abr;10(2):132-8. 2012.

SCHMIEDER, R., EDWARDS, R. Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. **Future Microbiology**. 7(1), 73-89. (2012).

SEIBERT, G. et al. Infecções hospitalares por enterobactérias produtoras de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase em um hospital escola. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 282-286, Sept. 2014. Disponível em:  
<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-45082014000300282&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082014000300282&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 20 de dezembro de 2017.

SILVA, K. C.; LINCOPAN, N. Epidemiologia das betalactamases de espectro estendido no Brasil: impacto clínico e implicações para o agronegócio. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 48. n. 2. p. 91-99 Abril 2012.

TZOUVELEKIS, L. S. et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other *Enterobacteriaceae*: an evolving crisis of global dimensions. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 4, p. 682-707, 2012.

VAN DUIN, D. **Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae**: What we know and what we need to know, *Virulence*, 8:4, 379-382. 2017. DOI: 10.1080/21505594.2017.1306621.

VENTOLA, C. L. **The antibiotic resistance crisis**: part 1: causes and threats. *Pt 40(4)*: 277-283. 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>>. Acesso em: 05 de novembro de 2017.

VERDI, C. M. et al. Detecção laboratorial dos mecanismos de resistência da *Klebsiella pneumoniae*: Uma Revisão. **Revista Saúde Integrada**, v. 9, n. 17. 2016. Disponível em: < <http://local.cneccs.an.edu.br/revista/index.php/saude/article/view/244/287>>

WOLLHEIM, C. **Epidemiologia molecular de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* produtoras de Beta-lactamase de espectro ampliado**. Monografia (Tese de doutorado). Universidade de Caxias do Sul. Instituto de Biotecnologia. 2009.